

흰다리새우 사료 내 괭생이모자반(*Sargassum horneri*) Celluclast 가수 분해물과 *Lactobacillus plantarum*의 신바이오틱스 이용성 평가

김민주¹ · 김수혁¹ · 김수아¹ · 전유진¹ · 이경준^{1,2*}

¹제주대학교 해양생명과학과, ²기당해양과학원 수산생물연구소

Evaluation of the Dietary Synbiotics of *Sargassum horneri* Celluclast Hydrolysate and *Lactobacillus plantarum* and Their Effects on the Pacific White Shrimp *Penaeus vannamei*

Minju Kim¹, Suhyeok Kim¹, Sua Kim¹, You-Jin Jeon¹ and Kyeong-Jun Lee^{1,2*}

¹Department of Marine Life Sciences, Jeju National University, Jeju 63243, Republic of Korea

²Marine Life Research Institute, Jeju National University, Jeju 63333, Republic of Korea

This study evaluated the effects of dietary synbiotics using *Sargassum horneri* celluclast hydrolysate (SCH, prebiotic) and *Lactobacillus plantarum* (LP, probiotic) on the growth, feed utilization, immunity and disease resistance of *Penaeus vannamei*. Six diets were formulated: Control (S0), 1% and 2% SCH-supplemented diets (S1 and S2), and the same diets each supplemented with 1% LP (S0LP, S1LP and S2LP). Eighteen tanks (180 L) were randomly assigned to the six dietary treatments, with three replicates of 25 shrimp (2.01 g) per tank, for 6 weeks. Growth and feed utilization were significantly increased in the S1LP group compared with those in the S0 group. Nitro blue tetrazolium activity was significantly enhanced in the S0LP group compared with that in the S0 group. The S1, S1LP and S2LP groups showed significantly improved lysozyme activity. Superoxide dismutase and catalase activities were significantly enhanced by the S1, S0LP, S1LP and S2LP diets. Notably, shrimp fed the S1, S0LP, S1LP and S2LP diets showed significantly higher disease resistance to *Vibrio harveyi* than those fed the S0 diet. Therefore, the combined supplementation of dietary 1% SCH with 1% LP improves the growth, immune and antioxidant capacity and disease resistance of *P. vannamei* against *V. harveyi*.

Keywords: Disease resistance, *Lactobacillus plantarum*, Pacific white shrimp, *Sargassum horneri*, Synbiotics

서 론

흰다리새우(*Penaeus vannamei*)는 전 세계적으로 가장 널리 양식되는 갑각류로, 높은 생산성과 사료 효율을 바탕으로 전 세계 새우 산업의 중심 종으로 자리 잡고 있다(FAO, 2024). 그러나 양식 규모의 확대와 고밀도 사육의 보편화는 세균성 질병의 발생 빈도를 높이고 있으며, 이는 양식 생산성 저하와 경제적 손실의 주요 원인이 되고 있다(Kumar et al., 2023). *Vibrio* 속 세균은 새우 양식에서 가장 흔한 병원체로 알려져 있으며, 간 췌장 괴사, 아가미 변색, 꼬리 괴사 등 다양한 병변을 유발하여 생존율과 성장률을 심각하게 저하시킨다(Kumar et al., 2021).

*Vibrio harveyi*는 흰다리새우에서 가장 빈번하게 분리되는 병원성 세균으로, 환경 스트레스나 수질 악화, 외상 등으로 면역력이 저하된 개체에 쉽게 감염된다(Zhou et al., 2012). *V. harveyi*는 새우의 외피나 소화관을 통해 침입하여 간 췌장, 근육, 체표 등 여러 조직에 염증과 괴사를 일으키고 나아가 식욕 저하, 체색 변화, 흑색 반점 등 야기시킨다(Saptiani et al., 2020). 또한 *V. harveyi*는 수온 상승, 고염도, 유기물 축적 등 해양 환경 조건에 따라 급격히 증식하기 때문에, *V. harveyi* 감염은 아시아, 남부 유럽, 남미를 포함한 많은 국가에서 관리가 가장 어려운 병원균 중 하나로 인식되고 있다(Zhang et al., 2020). 세균성 질병의 방제에는 항생제가 주된 수단으로 활용되어 왔으나, 항생제의 장

*Corresponding author: Tel: +82.64.754.3423 Fax: +82.64.756.3493

E-mail address: kjlee@jejunu.ac.kr

 This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2025.0697>

Korean J Fish Aquat Sci 58(6), 697-707, December 2025

Received 11 October 2025; Revised 10 November 2025; Accepted 9 December 2025

저자 직위: 김민주(대학원생), 김수혁(대학원생), 김수아(대학원생), 전유진(교수), 이경준(교수)

기적·무분별한 사용은 내성균 출현, 환경오염, 양식생물 내 잔류물 축적과 같은 문제를 야기한다(Yuan et al., 2023). 특히, 수산식품의 항생제 잔류에 대한 국제적인 규제가 강화되면서, 항생제 의존적 질병 관리 방식은 지속가능하지 않은 전략으로 평가받고 있다(Ljubojević Pelić et al., 2024). 최근에는 항생제를 대체할 수 있는 천연 유래 기능성 첨가제 개발과 발굴이 활발히 이루어지고 있으며, 이러한 물질을 활용한 면역력 증강 및 질병 저항성 개선 연구가 주목받고 있다(Dawood et al., 2018).

팽생이모자반(*Sargassum horneri*)은 최근 몇 년간 국내 연안 해역에 대량으로 유입되어 심각한 환경적, 경제적 문제를 초래하고 있다(Wen et al., 2016). 팽생이모자반의 대량 부유는 해안가로 떠밀려와 해변 경관을 훼손하고, 부패 과정에서 악취를 발생시켜 관광객 감소 등 지역 경제에도 부정적인 영향을 미친다(Han, 2024). 이러한 피해는 매년 반복되고 있으며, 수거 및 처리에 막대한 인력과 비용이 소요되고 있다. 그러나 현재까지 팽생이모자반의 자원화 방안은 미흡한 실정으로, 이를 효율적으로 활용할 수 있는 기술 개발이 절실히 하다. 흥미롭게도 팽생이모자반은 알긴산(alginic acid), 후코이단(fucoidan), 폴리페놀(polyphenol), 플라보노이드(flavonoid)와 같은 다양한 생리활성 물질을 함유하고 있어서 항산화, 항염증, 항균 활성을 보이는 것으로 보고되고 있다(Wang et al., 2019). 이전 연구에서는 팽생이모자반의 병원균에 대한 흰다리새우의 면역 반응과 질병 저항성을 향상시키는 것으로 보고되었다(Eom et al., 2020; Kim et al., 2024b). 그러나, 흰다리새우 사료에 팽생이모자반을 다양으로 첨가할 경우, 오히려 성장과 면역력에 부정적인 영향을 끼치는 것으로 보고되었다(Eom et al., 2020). 해조류 내의 과도한 섬유질, 폴리페놀(polyphenol), 미량의 항영양인자가 소화율과 영양소 흡수를 방해할 수 있기 때문인 것으로 추정된다(Kim et al., 2024b). 따라서, 본 연구에서는 팽생이모자반의 부정적인 영향을 최소화하고 생리활성 기능을 극대화하기 위한 방안으로, 프리바이오틱스로서의 활용 가능성을 평가하고자 하였다.

Lactobacillus plantarum (LP)은 혐기성 젖산균으로 양식 사료 내 프로바이오틱스로 널리 이용되고 있다(Piccolo et al., 2015). LP는 plantaricin, lactic acid와 같은 항균 물질을 생산하여 병원균의 성장을 억제하고 장내 미생물 균형을 조절하여 숙주의 면역력을 높이는 역할을 한다(Kim et al., 2024a). 흰다리새우 사료에 LP를 적정 수준(1×10^6 CFU/g)으로 첨가하면 성장과 사료효율이 향상되고, *V. harveyi* 감염에 대한 질병 저항성이 높아지는 것으로 보고되었다(Hui et al., 2023). 팽생이모자반과 같은 해조류 유래 프리바이오틱스와 LP의 복합 첨가는 숙주의 면역력과 질병 저항성을 높일 수 있으므로 친환경 기능성 사료첨가제로 많이 연구되고 있다(Lopez-Santamarina et al., 2020). 따라서, 본 연구는 사료 내 팽생이모자반과 LP의 단독 또는 복합 첨가가 흰다리새우의 성장, 비특이적 면역력, 항산화력 및 *V. harveyi*에 대한 질병 저항성에 미치는 영향을 평가하고자 수행되었다.

재료 및 방법

실험원료

실험에 사용된 팽생이모자반 효소가수분해물(*S. horneri* celluclast hydrolysate, SCH)은 제주대학교 해양과학대학 해양생물자원 이용공학연구실(Jeju, Korea)에서 제공받았다. SCH의 효소가수분해물은 Celluclast 효소방법(Liyanage et al., 2025)으로 수행되었으며, SCH의 영양성분은 조단백질 9.95%, 조지질 3.08%, 조섬유 45.6%, 회분 30.4%, 수분 11.0%로 구성되어 있다. LP는 KCCM12116 균주를 Q180 (Kjongkundang Health Co., Ltd., Seoul, Korea) 제품 형태로 이용하였으며, 해당 원제제는 1캡슐(270 mg)당 4.0×10^9 CFU (1.48×10^{10} CFU/g)를 함유하였다.

실험사료

대조사료(S0)의 주 단백질원으로는 어분, 참치부산물, 대두박, 오징어간분을 사용하였으며, 주 지질원으로는 대구간유를 사용하였다(Table 1). 5개의 실험사료는 S0 사료에 SCH를 각각 10, 20 g/kg (S1, S2)로 첨가하고, S0, S1, S2 사료에 LP를 각각 10 g/kg 씩 첨가하여(S0LP, S1LP, S2LP) 총 6개의 실험사료를 설계하였다. 실험사료는 사료 조성표에 따라 모든 원료를 혼합하고 총중량의 10%의 중류수를 첨가하였다. 사료 내 생균의 사멸을 방지하기 위해, 열 발생을 억제하는 냉각수 순환 시스템이 장착된 저온 압출 성형기(PM120; Bottene F. Ili Snc, Marano Vicentino, Italy)를 사용하여 2 mm 크기로 성형하였다. 성형된 실험사료는 25°C에서 12시간 건조 후 냉장(4°C)보관하며 사용하였다.

실험사료 내 LP 농도

사료 내 LP 농도를 확인하기 위해 실험사료를 분쇄한 후, 시료 5 g을 0.9% NaCl 용액 5 mL와 함께 50 mL 코니컬 튜브에 넣어 볼테싱하였다. 이후 시료를 5,000 g, 4°C에서 5 min 동안 원심 분리하여 상층액을 회수하였으며, 이를 멸균된 2% NaCl 첨가 *Lactobacilli* MRS agar (288130; BD DIFCOTM, NJ, USA)에 100 μ L 씩 도말한 후 30°C에서 48 h 배양하였다. 배양 후 형성된 CFU를 계수하여 농도를 산출한 결과, 최종 실험사료 내 LP 농도는 $6.99 \pm 0.81 \times 10^8$ CFU/g (n=5)이었다. 실험 기간 동안 냉장(4°C) 보관된 사료 내 LP 생균수의 안정성을 평가하기 위해 사육 기간 동안 매주 동일한 방법으로 실험사료 당 3반복으로 CFU를 측정하였다. 그 결과, 전체 기간 동안 사료 내 LP 생균수는 $4.45 \pm 0.08 \times 10^7$ CFU/g (n=6) 수준으로 유지되었다.

실험새우와 사육관리

실험에 사용된 흰다리새우는 새우종묘장(Sinan, Korea)에서 구입하였다. 구입한 새우는 사육실험 전까지 6주간 상업 사료(CJ Feed & Care Co., Ltd, Seoul, Korea)를 공급하면서

실험환경에 적응시켰다. 총 450마리의 실험 새우(평균무게 2.01 ± 0.02 g)를 수조당 25마리씩 18개의 원형 수조(180 L)에 수용하였으며, 각 실험구는 3반복으로 배치하였다. 사육 환경의 광주기는 형광등을 이용하여 12 light:12 dark로 유지하였다. 사육실험은 총 6주간 수행하였으며, 2주 간격으로 수조별 무게와 마릿수를 측정하여 체중의 4~6% 수준으로 제한 급이를 실시하였다.

사료는 매일 6회(08:30, 10:30, 12:30, 14:30, 16:30, 18:30 h)에 걸쳐 급이하였다. 수질 관리를 위해 용존산소와 수온은 Pro20 Dissolved Oxygen Instrument (YSI, Yellow Springs, OH, USA) 기기를 이용하여 매일 측정하였으며, pH는 Seven Compact (METTLER TOLEDO, Columbus, OH, USA)로, 염분은 Master Refractometer-S28M (ATAGO, Tokyo, Japan)을 이용하여 매일 측정하였다. 사육수 내 암모니아 농도는 Verdouw et al. (1978)의 방법에 따라 매주 한 차례 측정하여 수질을 지속적으로 모니터링하였다. 사육실험 기간 동안 모든

실험 수조의 용존산소는 6.71 ± 0.14 mg/L, 암모니아 농도는 0.16 ± 0.02 ppm, 수온은 30.3 ± 0.9 °C, pH는 7.33 ± 0.36 , 염분은 33.2 ± 1.5 ppt로 유지되었다.

Sampling과 분석

사육실험 종료 후, 모든 새우의 최종 무게(final body weight, FBW)와 마릿수를 측정하여 생존율(survival), 증체율(weight gain, WG), 일간성장률(specific growth rate, SGR), 사료계수(feed conversion ratio, FCR)와 단백질이용효율(protein efficiency ratio, PER)을 계산하였다. 각 수조에서 실험새우를 무작위로 선별하여 3마리의 새우를 얼음물에 마취하였다. 마취된 새우의 hemolymph를 채취한 후, 항응고제(Alsever's solution; Sigma, St. Louis, MO, USA)를 1:2 비율로 혼합하였다. 이후 원심분리(800 g, 20 min, 4°C)하여 혈장을 분리하였고, 분리된 혈장은 냉동(-80°C) 보관하였다. 멸균된 해부 도구를 이용하여 간췌장을 적출하여 액체질소에 동결하였다. 실험사료와 전어

Table 1. Dietary formulation and proximate composition of the six experimental diets for Pacific white shrimp *Penaeus vannamei*

Ingredients (g/kg)	Experimental diets					
	S0	S1	S2	S0LP	S1LP	S2LP
Fish meal (Anchovy) ¹	50.0	50.0	50.0	50.0	50.0	50.0
Tuna byproduct meal ²	50.0	50.0	50.0	50.0	50.0	50.0
Soybean meal	420.0	420.0	420.0	420.0	420.0	420.0
Squid liver meal	50.0	50.0	50.0	50.0	50.0	50.0
Wheat flour	198.0	198.0	198.0	198.0	198.0	198.0
Starch	120.0	110.0	100.0	110.0	100.0	90.0
SCH ³	0.00	10.0	20.0	0.00	10.0	20.0
<i>Lactobacillus plantarum</i> ⁴	0.00	0.00	0.00	10.0	10.0	10.0
Cod liver oil ⁵	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0
Mono calcium phosphate	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0
Cholesterol	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Lecithin	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
Vitamin Mix ⁶	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
Mineral Mix ⁷	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0
Proximate composition (% dry matter)						
Crude protein	32.1	32.5	32.5	32.5	32.3	32.7
Crude lipid	8.05	8.07	8.13	8.14	8.16	8.00
Ash	9.49	9.90	10.1	9.90	9.68	10.2
Moisture	4.45	5.06	5.28	5.11	4.62	5.09

¹Orizon S.A., CO., Ltd, Santiago, Chile. ²Wooginfeed Industry Co. Ltd, Incheon, Korea. ³*Sargassum horneri* celluclast hydrolysate; Department of Marine Biomedical Sciences, Jeju, Korea. ⁴Department of Marine Biomedical Sciences, Jeju, Korea. ⁵E-wha oil & fat Industry Corp, Busan, Korea. ⁶Vitamin mixture contained the following amount which were diluted in cellulose (g/kg, mixture): L-ascorbic acid, 6.4; DL- α tocopheryl acetate, 37.5; Thiamin hydrochloride, 5.0; Riboflavin, 10.0; Pyridoxine hydrochloride, 5.0; Niacin, 37.5; Ca-D-pantothenate, 17.5; Myo-inositol, 75.0; D-biotin, 0.05; Folic acid, 2.5; Menadione, 2.5; Retinyl acetate, 1.72; Cholecalciferol, 0.025; Cyanocobalamin, 0.025. ⁷Mineral mixture contained the following ingredients (g/kg, mixture): MgSO₄, 80.2; C4H₂FeO₄, 12.5; KCl, 130; FeSO₄·H₂O, 20; CuSO₄·5H₂O, 1.25; CoSO₄, 0.75; Ca(IO₃)₂, 0.75; Al(OH)₃, 0.75; ZnSO₄·7H₂O, 13.75; MnSO₄, 11.25; CoCl₂, 6H₂O, 1.

체의 일반성분분석은 AOAC (2005) 방법에 따라 진행되었다. 조단백질은 반자동조단백질분석기(Kjeltec™ system 8100; FOSS, Hillerød, Denmark)로 분석하였다. 수분은 상압가열건조법(125°C , 3 h), 조지질은 Folch et al. (1957)의 방법으로 분석하였으며, 회분은 직접회화법(550°C , 4 h)으로 분석하였다. Phenoloxidase (PO)와 nitro-blue tetrazolium (NBT) 활성도는 각각 Hernández-López et al. (1996)과 Zhang et al. (2013)의 방법으로 분석하였다. Lysozyme 활성은 Ellis (1990a)의 방법을, anti-protease 활성은 Ellis (1990b)의 방법에 따라 분석하였다. Superoxide dismutase (SOD) 활성은 SOD assay kit (19160; Sigma-Aldrich; St. Louis, MO, USA)를 사용하여 분석하였고, Catalase (CAT)는 CAT assay kit (DG-CAT400; Dogenbio, Seoul, Korea)를 이용하여 분석되었다. 혈액학적 지표는 chemistry reagents (AST/SGOT Liqui-UV Test; Stanbio™, Boerne, TX, USA, ALT/SGOT Liqui-UV Test; Stanbio™)를 이용하여 혈액생화학분석기(CH 100plus; RADIM Company, Roma, Italy)를 통해 alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) 농도를 분석하였다.

공격실험

사육실험 종료 후, 실험새우를 총 18개의 수조(60 L)에 15마리씩 3반복으로 배치하였다. 공격실험에 사용된 병원균은 *V. harveyi* (ATCC 14126)로 비브리오증에 감염된 흰다리새우의 간췌장에서 분리하였다. *V. harveyi*는 2% NaCl이 첨가된 tryptic soy broth (TSB; 211825; Difco™) 배지에 배양(30°C , 200 rpm, 24 h)하였다. 배양이 완료된 균주는 원심분리(4,000 g, 10 min, 4°C)하여 균체를 멸균된 e-tube에 회수하였으며, PBS (pH 7.4)로 2회 세척하였다. 세척된 균체는 멸균 PBS에 재현탁한 뒤, OD600에서 측정한 후 평판계수법을 통해 최종 농도를 4.9×10^6 CFU/mL로 조정하였다. 이후, 각 수조에 *V. harveyi* 혼탁액 30 mL를 침지하였다. 공격실험의 적절성을 확인하기 위해 'broth positive control (broth)'을 포함하였으며, 이는 균을 접종하지 않은 TSB 배지를 동일한 조건으로 투여한 대조구이다. 본 broth구에서 생존율은 100%로 나타났으며, 이를 통해 실험 환경에 의한 폐사가 없었음을 확인하였다. 공격실험 기간 (11일) 동안 실험사료는 1일 3회(09:00, 12:00, 18:00 h)에 나누어 제한공급(새우 체중의 3%)하였으며, 11일 동안 폐사를 관찰하였다.

통계학적 분석

본 실험의 결과는 SPSS (Version 24.0; International Business Machines Co., NY, USA) 프로그램을 이용하여 분석하였다. Shapiro-Wilk 검정을 사용하여 데이터의 정규성을 검사하였다. 각 실험군 내에서 사료 첨가 수준 간 차이를 검정하기 위해 일원분산분석(one-way ANOVA)을 실시하였다. 각 항목의 결과는 Duncan's multiple test ($P < 0.05$)를 통해 유의성을 검증하였다. 이후, SCH와 LP의 주효과(means of main effects) 및 상

호작용 효과(SCH \times LP)를 검증하기 위해 이원분산분석(two-way ANOVA)을 추가로 수행하였다. 백분율 데이터는 arcsine 변형 값으로 통계 분석에 사용하였으며, 모든 분석의 데이터는 평균값 \pm 표준편차(mean \pm SD)로 나타내었다.

결 과

사육실험 결과, 실험새우의 FBW는 S1LP구가 S0, S2, S2LP 구보다 유의적으로 높았으며, WG와 SGR은 S1LP구가 S2, S2LP구보다 유의적으로 높게 나타났다(Table 2). FCR은 S1, S0LP, S1LP구에서 S0, S2, S2LP구보다 유의적으로 낮고 PER은 S1, S1LP구에서 S0, S2, S2LP구보다 유의적으로 높게 나타났다. 생존율은 S1, S2, S0LP, S2LP구가 S0과 S1LP구보다 유의적으로 높았다. 성장 결과에 대한 주효과 분석 결과, FBW, WG, SGR은 SCH 1% 첨가가 2% 첨가에 비해 유의적으로 높았으며, LP 첨가에 따른 유의적인 차이는 FBW에서만 나타났다. 사료효율 지표에서는 FCR과 PER 모두 SCH 1% 첨가가 첨가하지 않은 것과 2% 첨가하는 것에 비해 긍정적인 효과가 관찰되었다. Two-way ANOVA 결과, SCH와 LP의 상호작용은 생존율에서만 유의적 차이를 나타냈다.

비특이적 면역 지표 분석 결과, PO와 anti-protease 활성은 모든 실험구간 유의적 차이가 없었으나, NBT 활성은 S0구에 비해 S0LP구에서 유의적으로 높았다(Table 3). Lysozyme 활성은 S1, S1LP, S2LP구에서 S0구보다 높았다. 주효과 비교 결과, SCH 첨가가 첨가하지 않은 것과 비교하여 유의하게 높은 lysozyme 활성을 보였으며, LP 첨가는 NBT 활성을 증가시키는 것으로 나타났다. Two-way ANOVA 분석 결과, 면역 지표 전반에서 SCH와 LP간 상호작용이 나타나지 않았다.

간 건강 지표 및 항산화 분석 결과, S0구에 비해 SCH 또는 LP 첨가에 따른 효과가 여러 지표에서 뚜렷하게 나타났다(Table 4). AST 농도는 S0구가 S2, S2LP구에 비해 유의적으로 높았다. ALT 농도 역시 S0구가 S1, S0LP, S1LP구에 비해 유의적으로 높은 수치를 보였다. SOD 활성은 S1, S0LP, S1LP, S2LP 구가 S0, S2구에 비해 유의적으로 높았다. CAT 활성은 S1LP구가 S0, S2, S0LP구에 비해 유의적으로 높았다. 주효과 분석 결과, AST 농도는 SCH 2% 첨가가 0% 첨가에 비해 유의하게 감소하였다. SOD, CAT에서는 SCH 1% 첨가가 0%, 2% 첨가보다 유의하게 높았으며, LP 1% 첨가가 0% 첨가에 비해 유의하게 높은 것으로 나타났다.

Two-way ANOVA 분석 결과, SCH와 LP의 상호작용은 CAT 활성에서만 나타났다. *V. harveyi* 인위감염 공격실험은 11일 동안 수행됐다(Fig. 1). 첫 번째 폐사는 침지 후 4 일차에 발생하였다. 11일간의 공격실험 결과, S1, S2, S0LP, S1LP, S2LP구의 생존율(48.9–64.4%)은 S0구(33.3%)보다 유의적으로 높았으며, SCH와 LP 각각의 주효과에서 유의적인 차이가 나타났으나 상호작용은 관찰되지 않았다.

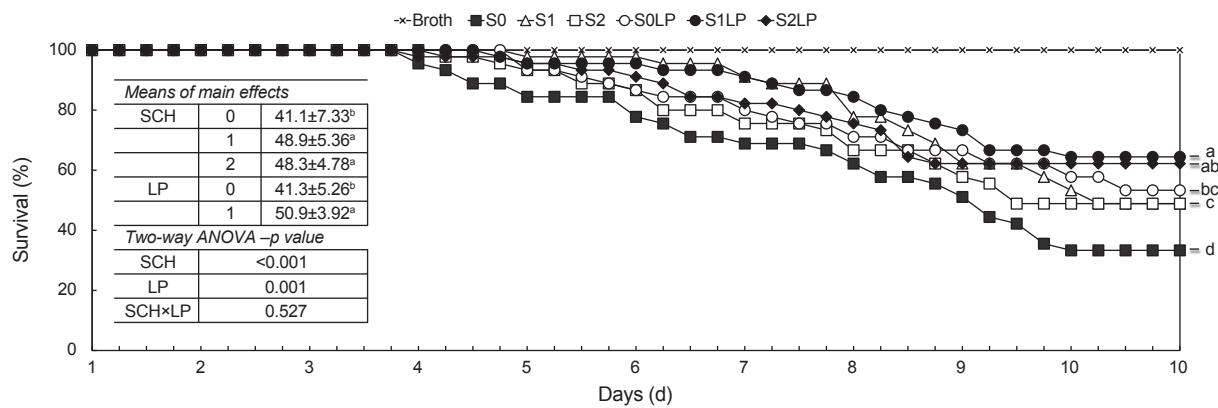


Fig 1. Cumulative survivals of Pacific white shrimp *Penaeus vannamei* after challenged against *Vibrio harveyi*. The shrimp were immersed with *V. harveyi* suspension containing 4.9×10^6 CFU/mL. Triplicate groups of shrimp were hand-fed with one of the six diets three times a day during the challenge period. Experimental diets were prepared with three levels of SCH (0, 1 and 2 g/kg) and two levels of LP (0 and 1 g/kg), designated as S0, S1, S2, S0LP, S1LP and S2LP, respectively. Broth treatment was positive control. Values are mean of triplicate and different superscripts denote significant difference ($P<0.05$).

고 찰

본 연구에서는 사료에 SCH와 LP를 각각 1% 수준으로 첨가

하였을 때 성장률과 사료효율이 향상되었으며, 신바이오틱스 처리구(S1LP)에서 가장 높은 성장과 사료효율이 확인되었다.

Chin et al. (2024)은 흰다리새우 사료에 LP (1×10^8 CFU/mL)

Table 2. Growth performance, feed utilization and survival of Pacific white shrimp *Penaeus vannamei* (initial body weight, 2.01 ± 0.01 g) fed the six experimental diets for 6 weeks

Diets	FBW ¹	WG ²	SGR ³	FCR ⁴	PER ⁵	Survival (%)
S0	11.2±0.32 ^b	461±12.5 ^{ab}	3.92±0.05 ^{ab}	1.48±0.12 ^a	2.01±0.17 ^{bc}	84.0±4.00 ^b
S1	11.4±0.38 ^{ab}	486±18.8 ^{ab}	4.02±0.07 ^{ab}	1.28±0.05 ^b	2.31±0.10 ^a	97.3±2.31 ^a
S2	10.8±0.52 ^b	440±26.0 ^b	3.83±0.11 ^b	1.49±0.05 ^a	1.97±0.07 ^c	96.0±4.00 ^a
S0LP	11.9±0.18 ^{ab}	487±11.0 ^{ab}	4.02±0.04 ^{ab}	1.35±0.04 ^b	2.18±0.06 ^{ab}	100±0.00 ^a
S1LP	12.2±0.59 ^a	511±34.4 ^a	4.11±0.13 ^a	1.31±0.02 ^b	2.24±0.04 ^a	82.0±8.49 ^b
S2LP	11.0±0.80 ^b	455±43.2 ^b	3.89±0.18 ^b	1.49±0.04 ^a	1.95±0.05 ^c	96.0±6.93 ^a
Two-way ANOVA						
SCH	0.044	0.027	0.028	0.002	0.001	0.123
LP	0.045	0.119	0.133	0.343	0.577	0.925
SCH×LP	0.604	0.924	0.932	0.142	0.122	0.001
Means of main effects						
SCH	0	11.5±0.44 ^{ab}	474±18 ^{ab}	3.97±0.07 ^{ab}	1.42±0.11 ^a	92.0±9.12
	1	11.7±0.58 ^a	496±26 ^a	4.06±0.97 ^a	1.29±0.04 ^b	91.2±9.55
	2	10.9±0.61 ^b	448±33 ^b	3.86±0.16 ^b	1.49±0.04 ^a	96.0±5.06
LP	0	11.1±0.44 ^b	463±26	3.92±0.11	1.42±0.13	92.4±7.06
	1	11.6±0.70 ^a	481±36	3.99±0.14	1.39±0.09	94.0±9.07

¹Final body weight (g). ²Weight gain (%)=(final body weight-initial body weight)/initial body weight×100. ³Specific growth rate (%)= $\{[\log(\text{final body weight})-\log(\text{initial body weight})]/\text{days}\} \times 100$. ⁴Feed conversion ratio=dry feed fed/wet weight gain. ⁵Protein efficiency ratio=wet weight gain/total protein given. Experimental diets were prepared with three levels of SCH (0, 1 and 2 g/kg) and two levels of LP (0 and 1 g/kg), designated as S0, S1, S2, S0LP, S1LP and S2LP, respectively. Values are mean of triplicate groups and presented as mean±SD. Values with different superscripts in the same column are significantly different ($P<0.05$). SCH, *Sargassum horneri* celluclast hydrolysate, LP, *Lactobacillus plantarum*.

와 모자반(*S. polycystum*) 2%를 복합 첨가하였을 때 성장, 사료효율, 생존율이 개선되었다고 보고하였다. 일반적으로 신바이오틱스 첨가에 의한 흰다리새우의 성장률 향상은 장내 유익균의 수준이 향상되고 소화효소의 활성이 올라가면서 영양소의 흡수율이 높아진다고 알려졌다(Hasyimi et al., 2020). 프로바이오틱스에 의해 합성되는 B 군 비타민은 어류의 장내에서 소화효소 합성의 보조인자로 작용할 뿐만 아니라 장내 단쇄지방산도 생산할 수 있다(God et al., 2023). 생성된 단쇄지방산은 장내 pH를 낮추어 소화효소 활성을 촉진하는 것으로 알려져 있다(Baruah et al., 2005). 신바이오틱스가 첨가된 사료는 새우의 장내 유익균의 증식을 촉진하고 단백질과 지질의 소화율을 향상시키는 것으로 보고되었다(Khanjani et al., 2024). 큰입バス(*Micropterus salmoides*)를 대상으로 한 연구에서는 *Bacillus subtilis* (1.0×10^{10} CFU/kg)와 mannan oligosaccharides (2.0–4.0 g/kg)를 혼합 첨가한 사료를 공급했을 때, 장내 amylase와 protease의 활성이 증가하여 성장률이 향상되었다고 보고되었다(Yang et al., 2020). 본 연구 결과에서는 성장 및 사료효율 지표에서는 SCH와 LP 간의 통계적으로 유의한 상호

작용 효과가 관찰되지 않아, 두 물질의 복합 첨가에 따른 상승 효과(synergistic effect)는 확인되지 않았다. 반면 SCH는 유의한 주효과를 나타냈으며, 이는 SCH 첨가가 새우의 성장과 사료효율에 독립적으로 영향을 미친다는 것을 의미한다. 그러나 SCH 2% 수준에서는 성장 저해가 확인되었으며, 이는 사료 내 SCH 첨가 수준을 1% 이하로 유지하는 것이 적정함을 시사한다. 이러한 결과는 이전 연구(Eom et al., 2020)의 보고와 일치한다. 생존율의 경우 S1LP 실험구에서 가장 낮게 나타났으며, 이는 빠른 성장에 동반되는 생리적 취약성 증가와 관련된 것으로 판단된다. 흰다리새우는 탈피를 통해 불연속적으로 성장하는 사다리형(ladder-type) 성장 패턴을 보이며, 탈피 과정은 외골격 연화, 에너지 재분배, 삼투조절 변화 등이 일어나 생리적 스트레스가 극대화되는 단계이다(Gao et al., 2015). 선행 연구에 따르면 사망 개체의 상당 비율이 탈피 과정 또는 탈피 직후의 취약 단계에서 발생하며, 이 시기에는 외골격이 약화되어 외부 자극이나 공격에도 특히 민감한 것으로 보고되어 왔다(Lemos and Weissman, 2021; Huber et al., 2023). 따라서 S1LP 처리구에서 관찰된 낮은 생존율은 빠른 성장에 따른 탈피 빈도 증가가

Table 3. Non-specific immune responses of Pacific white shrimp *Penaeus vannamei* fed the six experimental diets for 6 weeks

Diets	PO ¹	NBT ²	Lysozyme ³	Anti-protease ⁴
S0	0.14±0.02	0.68±0.16 ^b	0.64±0.09 ^b	86.8±3.43
S1	0.18±0.03	0.80±0.18 ^{ab}	1.44±0.38 ^a	86.9±0.59
S2	0.17±0.04	0.97±0.17 ^{ab}	1.34±0.56 ^{ab}	87.8±2.28
S0LP	0.20±0.02	1.07±0.11 ^a	1.12±0.35 ^{ab}	85.8±3.17
S1LP	0.18±0.03	1.00±0.24 ^{ab}	1.53±0.22 ^a	91.7±10.5
S2LP	0.19±0.03	1.00±0.13 ^{ab}	1.44±0.57 ^a	86.5±0.63
Two-way ANOVA				
SCH	0.914	0.635	0.048	0.558
LP	0.175	0.046	0.259	0.719
SCH×LP	0.262	0.321	0.655	0.487
Means of main effects				
SCH 0	0.17±0.04	0.88±0.25	0.88±0.34 ^b	86.3±3.00
1	0.18±0.03	0.90±0.25	1.48±0.28 ^a	89.3±7.17
2	0.18±0.04	0.98±0.15	1.39±0.50 ^a	87.2±1.67
LP 0	0.17±0.03	0.82±0.21 ^b	1.14±0.51	87.2±2.14
1	0.18±0.28	1.02±0.18 ^a	1.36±0.40	88.0±6.16

¹Phenoloxidase activity (absorbance). ²Nitro-blue tetrazolium activity (absorbance). ³Lysozyme activity (μg/mL). ⁴Antiprotease activity (% inhibition). SCH, *Sargassum horneri* celluclast hydrolysate, LP, *Lactobacillus plantarum*. Experimental diets were prepared with three levels of SCH (0, 1 and 2 g/kg) and two levels of LP (0 and 1 g/kg), designated as S0, S1, S2, S0LP, S1LP and S2LP, respectively. Values are mean of triplicate groups and presented as mean±SD. Values with different superscripts in the same column are significantly different ($P<0.05$).

Table 4. Hematological parameters and antioxidant capacity of Pacific white shrimp *Penaeus vannamei* fed the six experimental diets for 6 weeks.

Diets	AST ¹	ALT ²	SOD ³	CAT ⁴
S0	64.7±12.2 ^a	41.5±8.78 ^a	66.8±2.85 ^b	88.6±3.42 ^c
S1	43.3±23.8 ^{ab}	24.1±12.0 ^b	80.9±10.7 ^a	116.1±1.11 ^{ab}
S2	25.0±3.39 ^b	32.1±4.09 ^{ab}	64.2±8.27 ^b	88.3±2.86 ^c
S0LP	46.0±11.6 ^{ab}	26.0±8.86 ^b	80.7±7.69 ^a	112.5±4.40 ^b
S1LP	42.5±12.0 ^{ab}	26.1±2.66 ^b	89.6±3.64 ^a	119.2±3.90 ^a
S2LP	30.5±19.2 ^b	28.3±0.75 ^{ab}	88.3±1.81 ^a	118.8±3.90 ^{ab}
Two-way ANOVA				
SCH	0.027	0.164	0.027	0.001
LP	0.526	0.121	0.001	0.001
SCH×LP	0.386	0.152	0.170	0.001
Means of main effects				
SCH 0	55.3±14.8 ^a	33.8±11.6	73.7±9.19 ^b	99.5±14.6 ^b
1	42.9±16.9 ^{ab}	25.1±7.87	85.3±8.62 ^a	118±3.09 ^a
2	27.7±12.7 ^b	30.2±3.34	76.2±14.2 ^b	104±17.0 ^b
LP 0	44.3±21.9	32.6±10.8	70.6±10.4 ^b	97.0±14.5 ^b
1	39.7±14.5	26.8±4.77	86.2±6.04 ^a	117±4.81 ^a

¹Aspartate aminotransferase (U/L). ²Alanine aminotransferase (U/L). ³Superoxide dismutase activity (% inhibition). ⁴Catalase activity (mU/mL). Experimental diets were prepared with three levels of SCH (0, 1 and 2 g/kg) and two levels of LP (0 and 1 g/kg), designated as S0, S1, S2, S0LP, S1LP and S2LP, respectively. Values are mean of triplicate groups and presented as mean±SD. Values with different superscripts in the same column are significantly different ($P<0.05$).

개체의 생리적 부담을 높였거나 일부 개체에서 탈피 실패로 이어진 결과로 해석된다.

새우는 후천면역 체계가 결여되어 있어서 선천면역에 의존한다(Vazquez et al., 2009). 최근에는 새우의 질병저항성을 높이기 위해서 선천면역을 강화할 수 있는 기능성 사료 첨가제의 개발이 요구되고 있다. NBT 분석은 혈구 자극 시 발생하는 호흡 폭발을 정량화함으로써 새우의 건강 상태를 평가하는 대표적인 면역 지표로 활용된다(Guertler et al., 2010). Lysozyme은 세균 세포벽의 펩티도글리칸을 특이적으로 가수분해하여 직접적인 항균 작용을 나타내는 체액성 면역 인자로, 새우의 면역 반응을 평가하는 주요 지표로 사용된다(Hu et al., 2022). SCH와 같은 해조류나 해조추출물은 폴리페놀과 플라보노이드와 같은 생리활성 물질을 함유하고 있어서 사료에 첨가할 경우 새우의 면역력을 높일 수 있을 것으로 보고되었다(Lee et al., 2020). 여러 연구에 따르면 팽생이모자반은 폴리페놀, 후코잔틴(fucosanthin), 후코이단, 카로티노이드(carotenoids)를 풍부하게 함유하고 있어서 항산화, 항종양, 항염증 작용을 통해 장 건강을 개선하고 면역력을 강화할 수 있다(Im et al., 2023). 특히, 폴리사카라이드(polysaccharide)와 후코잔틴 함량이 미역(*Undaria pinnatifida*) 및 다시마(*Saccharina japonica*)보다 높은 것으로 보고되었으며, Eom et al. (2020)은 팽생이모자반에 B군 비타민과 후코이단, sulfated polysaccharides와 같은 생리활성 물질이 흰다리새우의 hemolymph내 비특이적 면역 반응을 향상시킬 수 있음을 제시하였다. Kim et al. (2024b)은 SCH와 같은 셀룰로스가 가수분해된 해조류 추출물은 소화율과 영양소 이용률을 높인 다당류가 새우의 면역체계를 자극하여 NBT, lysozyme, PO, anti-protease 활성의 증가를 유도하였다고 보고하였다. 그러나 본 연구의 Two-way ANOVA 결과는 기존 선행 연구들과 부분적으로만 일치하였으며, 면역 지표별로 상이한 반응이 확인되었다. Lysozyme 활성에서는 SCH의 주효과가 유의하게 나타났으며, 이는 팽생이모자반 유래 생리활성 물질이 체액성 면역 인자를 자극한다는 선행 연구(Kim et al., 2024b)의 보고와 일치한다. 반면 NBT 활성에서는 SCH의 영향이 유의하지 않았으나 LP의 주효과가 뚜렷하게 나타나, 프로바이오틱스 첨가가 혈구의 호흡 폭발 활성 증진에 기여함을 확인할 수 있었다. PO와 Anti-protease 활성은 본 연구 조건에서는 SCH와 LP 모두에서 유의한 주효과가 나타나지 않았으며, 두 요인 간 상호작용 또한 관찰되지 않았다. 이러한 결과는 특정 면역 지표에서는 첨가제의 효과가 제한적이거나 반응성이 낮게 나타날 수 있음을 시사한다. 또한 모든 면역 지표에서 SCH와 LP 간 상호작용 효과가 통계적으로 유의하지 않아, 본 연구 조건에서는 비특이적 면역 반응에 대한 신바이오틱스적 상승효과는 확인되지 않았다. 이는 두 물질이 개별적으로는 면역 활성에 기여할 수 있으나, 그 결합이 면역 체계 전반에서 일관된 상호증폭 효과를 유도하지는 않는다는 점을 시사한다.

SOD와 CAT는 대표적인 항산화 효소로, 활성산소를 제거하

여 숙주를 산화적 손상으로부터 보호하고, 수생동물의 면역력과 항스트레스 능력의 유지에 핵심적인 역할을 수행한다(Lim et al., 2023). 팽생이모자반을 포함한 여러 갈조류에서 유래한 추출물은 carotenoids, phenolic acid, flavonoid를 풍부하게 함유하고 있어서 천연 항산화제로서 활용 가능성이 높다고 알려져 있다(Heo et al., 2005). Wan et al. (2022)은 참게(*Eriocheir sinensis*) 사료에 프로바이오틱스(*L. acidophilus* and *B. subtilis*)와 *Saccharomyces cerevisiae*를 병용 첨가했을 때 SOD와 CAT 활성이 향상되었다고 보고하였다. 또한, *S. horneri* 열수추출물을 첨가한 사료를 섭취한 동자개(*Pelteobagrus fulvidraco*)에서 항산화력이 증진되었다고 보고되었다(Shi et al., 2021). 흰다리새우를 대상으로 한 연구에서도 팽생이모자반 분말 및 추출물의 첨가가 SOD, CAT 활성을 높였다고 보고하였다(Eom et al., 2020; Kim et al., 2024b). 주효과 및 상호작용에 대한 통계학적 분석 결과, SOD 활성에서는 SCH와 LP가 각각 독립적으로 활성을 증가시키는 주효과가 확인되었으나 상호작용은 관찰되지 않았다. 반면, CAT 활성에서는 SCH와 LP 각각의 주효과와 더불어 두 요인 간 유의한 상호작용이 나타났다. 이는 SCH와 LP가 개별적으로 항산화 체계에 기여하는 동시에, 특정 항산화 경로(CAT 활성)에서는 두 요인이 상호적으로 작용함을 시사한다. 종합적으로, SCH는 프리바이오틱스로서 항산화 조절에 기여하고, LP는 프로바이오틱스로서 항산화 기능을 보조하지만, 두 요인의 결합이 전반적 항산화 지표에서 뚜렷한 상승 효과를 나타내지는 않았다. 다만 CAT 활성에서 확인된 상호작용은 SCH와 LP의 결합이 제한적 범위 내에서 신바이오틱스적 효과를 발휘할 수 있음을 보여주는 결과로 판단된다.

AST, ALT는 간 손상 지표로써 새우의 건강도를 평가하는데 주요 바이오마커로써 활용된다(Chen et al., 2019). 분석 결과, AST 수치는 SCH의 주효과에 의해 유의하게 감소하였으며, LP 첨가는 AST에 유의한 영향을 미치지 않았다. ALT 수치에서는 SCH와 LP 각각의 주효과뿐만 아니라 상호작용 효과도 나타나지 않았으며, 간 기능 지표 중에서는 AST에서만 SCH 2% 처리에 따른 유의한 변화가 확인되었다. 일반적으로 AST는 간 세포막이 손상될 경우 빠르게 혈중으로 방출되는 효소로서 조직 내 산화 스트레스가 증가할수록 수치가 상승하는 경향을 보인다(Al-Dbagh et al., 2020). 따라서 SCH 첨가구에서 관찰된 AST의 유의미한 감소는 SCH가 간췌장 세포막의 손상을 억제하여 조직의 안정성을 높였음을 시사한다. 이는 해조류 유래 다당류가 항산화 반응을 촉진하여 활성산소 축적을 억제함으로써 간세포막의 안정성이 높아진 것으로 판단된다. Ashour et al. (2025)은 *Pterocladia capillacea*를 사료 내 첨가했을 때 흰다리새우의 항산화 효소 활성이 유의하게 증가되었고 AST 수치가 감소되었다고 보고하였다(Ashour et al., 2025). 이와 유사하게, *Ulva lactuca*, *Jania rubens*, *P. capillacea* 추출물 또한 사료 내에 첨가할 경우, *Pangasianodon hypophthalmus*의 혈중 AST 수치가 감소되었고, 항산화 효소 활성이 유의하게 증가하였다(Ab-

delhamid et al., 2021). 항산화 효소는 산화스트레스를 억제하여 산화로 인한 손상을 완화한다(Jomova et al., 2024). 본 연구에서 관찰된 AST 수치의 감소 또한 SCH에 의해 강화된 항산화 방어 기전이 간췌장 세포를 산화적 손상으로부터 효과적으로 보호한 결과로 해석된다. 결론적으로, AST의 유의한 저하는 SCH 처리구에서만 확인되었으며, 이는 SCH가 성장 촉진과 간기능 안정화에 기여할 수 있는 기능성 사료 성분임을 보여준다. 새우의 장내 유익균 증식을 촉진하고 병원성 세균의 증식을 억제할 수 있는 기능성 사료 첨가제의 개발은 새우의 건강 관리과 질병 저항성 향상에 중요한 전략으로 제시되고 있다(Khanjani et al., 2024). 해조류 유래 성분의 프리바이오틱스 효과는 새우를 포함한 다양한 수산동물에서 보고된 바 있다. 최근 제브라피쉬를 대상으로 한 연구에서, 발효 처리된 팽생이모자반을 사료에 첨가하였을 때 LP, *L. pentosus*, *L. brevis*와 같은 유익균이 증가하였으며 병원균이 감소하였고, *Streptococcus paraberberis* 감염에 대한 질병 저항성이 유의하게 향상되었다(Kim et al., 2024a). Eom et al. (2020)은 팽생이모자반 분말을 4% 첨가한 사료가 *V. parahaemolyticus* 감염 후 흰다리새우의 생존율을 유의적으로 향상시킨다고 보고하였다. Lee et al. (2016)의 연구에서는 넙치(*Paralichthys olivaceus*) 사료에 LP와 감태(*Ecklonia cava*)를 복합 첨가하였을 때 비특이적 면역 반응이 활성화되고 *Edwardsiella tarda*, *S. iniae*, *V. harveyi* 감염에 대한 저항성이 강화되는 것으로 나타났다. *Penaeus monodon*을 대상으로 한 연구에서도 LP (1×10^8 CFU/mL)와 *S. polycystum* 2%를 병용 첨가한 사료를 공급했을 때 *V. parahaemolyticus* 감염 후 생존율이 유의하게 증가하였다고 보고되었다(Zhang et al., 2011). 본 연구에서도, *V. harveyi* 공격실험 후 생존율은 SCH와 LP 각각의 주효과에 의해 유의하게 증가하였으며, 이는 두 첨가제가 병원성 *Vibrio*에 대한 새우의 방어능을 독립적으로 향상시킨다는 점을 보여준다. SCH 첨가는 팽생이모자반 유래 생리활성 성분에 의해 항병성 강화 효과가 나타난 것으로 보이며, LP는 프로바이오틱스로서 장 면역 조절 및 병원균 억제 기능을 통해 생존율 향상에 기여한 것으로 판단된다. 그러나 SCH와 LP 간 상호작용 효과는 통계적으로 유의하지 않아, 두 요인의 결합이 질병 감염 저항에 대한 추가적인 상승효과를 유도하지는 않는 것으로 확인되었다. 이는 SCH와 LP가 개별적으로는 병원성 세균에 대한 저항성을 개선하지만, 그 결합이 새로운 수준의 보호 효과를 생성하는 신바이오틱스적 상호증폭 효과로 이어지지는 않았음을 시사한다.

결론적으로, 본 연구에서 SCH 첨가의 효과는 첨가 수준에 따라 상이하게 나타났으며, 특히 SCH 2% 처리구에서는 1% 처리구 대비 성장 및 사료효율이 저하되는 경향이 확인되었다. 이는 SCH의 생리적 효과가 첨가량 증가에 따라 선형적으로 향상되지 않으며, 과량 첨가 시 새우의 대사적 부담이 발생할 가능성을 시사한다. 면역 및 항산화 반응 측면에서는 SCH 1%와 LP 1% 단독 첨가가 일부 지표(lysozyme, NBT, SOD, CAT)를 개선하

였으나, 두 원료를 복합적으로 첨가한 S1LP 처리구에서는 생존율이 S1 처리구 대비 유의하게 낮게 나타났다. 이는 두 원료 간 상호작용이 synergistic한 방향이 아니라 antagonistic한 방향으로 작용했음을 보여주며, 원료 복합 첨가의 실용성에는 제한이 있을 수 있음을 의미한다. 따라서 SCH 1% 또는 LP 1%의 단독 첨가는 기능성 사료첨가제로서의 잠재력을 보이나, 두 원료의 병용 사용에 대한 일반화는 신중해야 하며, 첨가 수준의 최적화, 장기 사육, 다양한 병원체 연구 등의 추가 연구가 필요하다.

사 사

이 논문은 2019년도 정부(교육부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업임(RS-2019-NR040078).

References

- Abdelhamid AF, Ayoub HF, Abd El-Gawad EA, Abdelghany MF and Abdel-Tawwab M. 2021. Potential effects of dietary seaweeds mixture on the growth performance, antioxidant status, immunity response, and resistance of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) against *Aeromonas hydrophila* infection. Fish Shellfish Immunol 119, 76-83. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2021.09.043>.
- Al-Dbagh M and Jwad SM. 2020. Shrimp extract (Astaxanthin) ameliorates the lipid profile and oxidative stress parameters in experimentally induced diabetes rats. J Crit Rev 7, 1675-1688. <http://dx.doi.org/10.31838/jcr.07.13.264>.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2005. Official Methods of Analysis. AOAC, Arlington, VA, U.S.A. <https://doi.org/10.1002/0471740039.vec0284>.
- Ashour M, Mabrouk MM, Mansour AIA, Naiel MAE, Mansour AT, Mohamed E and Abdelhamid AF. 2025. Seaweed (*Pterocladi capillacea*) nanoparticles improves growth performances, digestive enzymes, antioxidant activities, innate immunity, and related-immunity gene expressions of *Litopenaeus vannamei*. Front Mar Sci 12, 1600260. <https://doi.org/10.3389/fmars.2025.1600260>.
- Baruah K, Pal AK, Sahu NP, Jain KK, Mukherjee SC and Deb-nath D. 2005. Dietary protein level, microbial phytase, citric acid and their interactions on bone mineralization of *Labeo rohita* (Hamilton) juveniles. Aquac Res 36, 803-812. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2005.01290.x>.
- Chen S, Zhuang Z, Yin P, Chen X, Zhang Y, Tian L, Niu J and Liu Y. 2019. Changes in growth performance, haematological parameters, hepatopancreas histopathology and antioxidant status of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) fed oxidized fish oil: Regulation by dietary myo-inositol. Fish Shellfish Immunol 88, 53-64. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.02.023>.
- Chin YK, Haifa-Haryani WO, Nazarudin MF, Ahmad MI, Azam-Sayuti M, Mohamad A, Ida-Muryany MY, Karim M,

- Salleh A, Amal MNA, Norhariani MN and Ina-Salwany MY. 2024. The synergistic *Lactobacillus plantarum* L20 and *Sargassum polycystum* -added diet for improvement of Black tiger shrimp, *Penaeus monodon*'s growth, immune responses, bacterial profiles, and resistance against *Vibrio parahaemolyticus* associated acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) infection. *Aquac Rep* 34, 101903. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2023.101903>.
- Dawood MAO, Koshio S and Esteban MÁ. 2018. Beneficial roles of feed additives as immunostimulants in aquaculture: A review. *Rev Aquac* 10, 950-974. <https://doi.org/10.1111/raq.12209>.
- Ellis AE. 1990a. Lysozyme assays. In: *Techniques in Fish Immunology*. Stolen JS, Fletcher TC, Anderson DP, Roberson BS and Van Muiswinkel WB, eds. SOS Publications, Fair Haven, NJ, U.S.A., 101-103.
- Ellis AE. 1990b. Serum antiproteases in fish. In: *Techniques in Fish Immunology*. Leetown Science Center, Fair Haven, NJ, U.S.A., 95-99.
- Eom GH, Shin JB, Lim SJ, Lee KT, Han YS and Lee KJ. 2020. Evaluation of dietary supplementation of *Sargassum horneri* for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Korean J Fish Aquat Sci* 53, 909-917. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2020.0909>.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2024. The State of World Fisheries and Aquaculture 2024: Blue Transformation in Action. FAO, Rome, Italy. Retrieved from <https://www.fao.org/publications/fao-flagship-publications/the-state-of-world-fisheries-and-aquaculture/en> on Feb 20, 2025.
- Folch J, Lees M and Sloane-Stanley GH. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226, 497-509. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)64849-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)64849-5).
- Gao Y, Zhang X, Wei J, Sun X, Yuan J, Li F and Xiang J. 2015. Whole transcriptome analysis provides insights into molecular mechanisms for molting in *Litopenaeus vannamei*. *PLoS One* 10, e0144350. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144350>.
- Goh JXH, Tan LTH, Law JWF, Khaw KY, Zengin G, Chan KG, Letchumanan V, Lee LH and Goh BH. 2023. Probiotics: Comprehensive exploration of the growth promotion mechanisms in shrimps. *Prog Microbe Mol Biol* 6, a0000324. <https://doi.org/10.36877/pmmmb.a0000324>.
- Guertler C, Schleder DD, Barracco MA and Perazzolo LM. 2010. Comparative study of the intracellular superoxide anion production in different penaeid species through the NBT-reduction assay. *Aquac Res* 41, 1082-1088. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02393.x>.
- Hasyimi W, Widanarni W and Yuhana M. 2020. Growth performance and intestinal microbiota diversity in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* fed with a probiotic bacte-
rium, honey prebiotic, and symbiotic. *Curr Microbiol* 77, 2982-2990. <https://doi.org/10.1007/s00284-020-02117-w>.
- Han J. 2024. Enhancing *Bok choy* germination with eco-friendly *Sargassum horneri* extract. *Int J High Sch Res* 6, 69-72. <https://doi.org/10.36838/v6i4.1>.
- Heo SJ, Park EJ, Lee KW and Jeon YJ. 2005. Antioxidant activities of enzymatic extracts from brown seaweeds. *Bioresour Technol* 96, 1613-1623. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.07.013>.
- Hernández-López J, Gollas-Galván T and Vargas-Albores F. 1996. Activation of the prophenoloxidase system of the brown shrimp *Penaeus californiensis* Holmes. *Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol* 113, 61-66. [https://doi.org/10.1016/0742-8413\(95\)02033-0](https://doi.org/10.1016/0742-8413(95)02033-0).
- Hu F, Wang Y, Hu J, Bao Z and Wang M. 2022. A novel c-type lysozyme from *Litopenaeus vannamei* exhibits potent antimicrobial activity. *Fish Shellfish Immunol* 131, 729-735. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2022.10.056>.
- Huber AF, Fitzsimmons WA and Westhoff JT. 2023. The smaller, the better? First evaluation of growth and mortality in crayfish internally tagged with p-Chips. *J Crustac Biol* 43, ruad071. <https://doi.org/10.1093/jcbiol/ruad071>.
- Liu H, Lu Y, Xin Y, Dong L, Dong F, Lin J, Yu C and Zhang L. 2023. Effect of supplemental dietary *Lactobacillus plantarum* on growth performance, serum biochemical indexes and resistance to *Vibrio harveyi* infection of *Lateolabrax maculatus*. *Feed Res* 46, 49-55. <https://doi.org/10.13557/j.cnki.issn1002-2813.2023.23.010>.
- Im Y, Wang Q, Park J, Lee H and Kim H. 2023. *Sargassum horneri* extract ameliorates DSS-induced colitis through modulation of mTOR axis and intestinal microbiota. *Appl Sci* 13, 1742. <https://doi.org/10.3390/app13031742>.
- Jomova K, Alomar SY, Alwasel SH, Nepovimova E, Kuca K and Valko M. 2024. Several lines of antioxidant defense against oxidative stress: Antioxidant enzymes, nanomaterials with multiple enzyme-mimicking activities, and low-molecular-weight antioxidants. *Arch Toxicol* 98, 1323-1367. <https://doi.org/10.1007/s00204-024-03696-4>.
- Khanjani MH, Torfi Mozanzadeh M, Gisbert E and Hoseinifar SH. 2024. Probiotics, prebiotics, and symbiotics in shrimp aquaculture: Their effects on growth performance, immune responses, and gut microbiome. *Aquac Rep* 38, 102362. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2024.102362>.
- Kim JY, Jang SJ, Song, HJ, Lee SH, Cheon SJ, Seo EJ, Choi YH and Kim SH. 2024a. *Sargassum horneri* extract fermented by *Lactiplantibacillus pentosus* SH803 mediates adipocyte metabolism in 3T3-L1 preadipocytes by regulating oxidative damage and inflammation. *Sci Rep* 14, 15064. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-65956-8>.
- Kim SA, Choe IH, Kim SH and Lee KJ. 2024b. Evaluation of dietary supplementation of *Sargassum horneri* celluclast hydrolysate for Pacific white shrimp *Penaeus vannamei*. Ko-

- rean J Fish Aquat Sci 57, 497-504. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2024.0497>.
- Kumar S, Verma AK, Singh SP and Awasthi A. 2023. Immuno-stimulants for shrimp aquaculture: Paving pathway towards shrimp sustainability. Environ Sci Pollut Res Int 30, 25325-25343. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-18433-y>.
- Kumar V, Roy S, Behera BK, Bossier P and Das BK. 2021. Acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND): Virulence, pathogenesis and mitigation strategies in shrimp aquaculture. Toxins 13, 524. <https://doi.org/10.3390/toxins13080524>.
- Lee PT, Tran HTQ, Huang HT, Nan FH and Lee MC. 2020. *Sargassum horneri* extracts stimulate innate immunity, enhance growth performance, and upregulate immune genes in the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Fish Shellfish Immunol 102, 276-285. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.04.049>.
- Lee WW, Ahn GN, Oh JY, Kim SM, Kang NL, Kim EA, Kim KN, Jeong JB and Jeon YJ. 2016. A prebiotic effect of *Ecklonia cava* on the growth and mortality of olive flounder infected with pathogenic bacteria. Fish Shellfish Immunol 51, 313-320. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.02.030>.
- Lemos D and Weissman D. 2021. Moulting in the grow-out of farmed shrimp: A review. Rev Aquac 13, 5-17. <https://doi.org/10.1111/raq.12461>.
- Lim KC, Yusoff FM, Karim M and Natrah FMI. 2023. Carotenoids modulate stress tolerance and immune responses in aquatic animals. Rev Aquac 15, 872-894. <https://doi.org/10.1111/raq.12767>.
- Liyanage NM, Nagahawatta DP, Yang F, Kim YS, Kim DK and Jeon YJ. 2025. Synbiotic regulation of chronic intestinal inflammation by *Sargassum horneri* fucoidan and *Lactobacillus plantarum*. J Funct Foods 133, 106988. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2025.106988>.
- Ljubojević Pelić D, Radosavljević V, Pelić M, Živkov Baloš M, Puvača N, Jug-Dujaković J and Gavrilović A. 2024. Antibiotic residues in cultured fish: Implications for food safety and regulatory concerns. Fishes 9, 484. <https://doi.org/10.3390/fishes9120484>.
- Lopez-Santamarina A, Miranda JM, Mondragon ADC, Lamas A, Cardelle-Cobas A, Franco CM and Cepeda A. 2020. Potential use of marine seaweeds as prebiotics: A review. Molecules 25, 1004. <https://doi.org/10.3390/molecules25041004>.
- Piccolo G, Bovera F, Lombardi P, Mastellone V, Nizza S, Meo CD, Marono S and Nizza A. 2015. Effect of *Lactobacillus plantarum* on growth performance and hematological traits of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Aquac Int 23, 1025-1032. <https://doi.org/10.1007/s10499-014-9861-8>.
- Saptiani G, Sidik AS, Ardhani F and Hardi EH. 2020. Response of hemocytes profile in the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) against *Vibrio harveyi* induced by *Xylocarpus granatum* leaves extract. Vet World 13, 751-757. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2020.751-757>.
- Shi Q, Wang J, Qin C, Yu C, Wang S and Jia J. 2021. Growth performance, serum biochemical parameters, immune parameters and hepatic antioxidant status of yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco* supplemented with *Sargassum horneri* hot-water extract. Aquac Rep 21, 100839. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100839>.
- Vazquez L, Alpuche J, Maldonado G, Agundis C, Pereyra-Morales A and Zenteno E. 2009. Review: Immunity mechanisms in crustaceans. Innate Immun 15, 179-188. <https://doi.org/10.1177/1753425909102876>.
- Verdouw H, Van Echteld CJA and Dekkers EMJ. 1978. Ammonia determination based on indophenol formation with sodium salicylate. Water Res 12, 399-402. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(78\)90107-0](https://doi.org/10.1016/0043-1354(78)90107-0).
- Wan JJ, Pan JL, Shen MF, Xue H, Sun ML, Zhang MQ, Zhu XH and Ma XK. 2022. Changes in the growth performance, antioxidant enzymes and stress resistance caused by dietary administration of synbiotic (fructooligosaccharide and probiotics) in juvenile Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*. Aquac Int 30, 467-481. <https://doi.org/10.1007/s10499-021-00811-5>.
- Wang C, Hu W, Wang L, Qiao H, Wu H and Xu Z. 2019. Effects of dietary supplementation with *Sargassum horneri* meal on growth performance, body composition, and immune response of juvenile turbot. J Appl Phycol 31, 771-778. <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1590-3>.
- Wen ZS, Xiang XW, Jin HX, Guo XY, Liu LJ, Huang YN, Ou-Yang XK and Qu YL. 2016. Composition and anti-inflammatory effect of polysaccharides from *Sargassum horneri* in RAW264.7 macrophages. Int J Biol Macromol 88, 403-413. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.02.025>.
- Yang P, Yang W, He M, Li X and Leng XJ. 2020. Dietary synbiotics improved the growth, feed utilization and intestinal structure of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) juvenile. Aquac Nutr 26, 590-600. <https://doi.org/10.1111/anu.13020>.
- Yuan X, Lv Z, Zhang Z, Han Y, Liu Z and Zhang H. 2023. A review of antibiotics, antibiotic resistant bacteria, and resistance genes in aquaculture: Occurrence, contamination, and transmission. Toxics 11, 420. <https://doi.org/10.3390/toxics11050420>.
- Zhang Q, Tan B, Mai K, Zhang W, Ma H, Ai Q, Wang X and Liu Z. 2011. Dietary administration of *Bacillus* (*B. licheniformis* and *B. subtilis*) and isomaltooligosaccharide influences the intestinal microflora, immunological parameters and resistance against *Vibrio alginolyticus* in shrimp, *Penaeus japonicus* (Decapoda: Penaeidae). Aquac Res 42, 943-952. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2010.02677.x>.
- Zhang SP, Li JF, Wu XC, Zhong WJ, Xian JA, Liao SA, Miao YT and Wang AL. 2013. Effects of different dietary lipid level on the growth, survival and immune-relating genes expression in Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*.

- mei. Fish Shellfish Immunol 34, 1131-1138. <http://doi.org/10.1016/j.fsi.2013.01.016>.
- Zhang XH, He X and Austin B. 2020. *Vibrio harveyi*: A serious pathogen of fish and invertebrates in mariculture. Mar Life Sci Technol 2, 231-245. <https://doi.org/10.1007/s42995-020-00037-z>.
- Zhou J, Fang W, Yang X, Zhou S, Hu L, Li X, Qi X, Su H and Xie L. 2012. A nonluminescent and highly virulent *Vibrio harveyi* strain is associated with “bacterial white tail disease” of *Litopenaeus vannamei* shrimp. PLoS One 7, e29961. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029961>.